

今後はこれらのことを考慮し、予知性の高いインプラント治療を施せるよう、臨床データを積み重ねていきたいと考える。

3. ビスフォスフォネート投与が歯肉溝滲出液中の硫酸化グリコサミノグリカン量に与える影響 —簡易微量測定法による分析—

谷口真佐人（朝日大・歯・歯周病）

<目的>

ビスフォスフォネート（以下Bi）は骨粗鬆症をはじめとする骨代謝疾患の改善薬として開発され、副作用が比較的少なく、かつ有効な薬物として認められている。歯槽骨の代謝へのBi投与の影響についても検討されており、歯槽骨代謝に影響を与えることが報告されている。本研究は簡易微量測定法の深部歯周組織の代謝マーカーとしての可否を検討する目的で、1 イヌに実験的歯周炎を惹起させたもの、2 実験的インプラント周囲炎を惹起させたものに対してBiを投与し、歯肉溝滲出液（以下GCF）及びインプラント周囲溝浸出液（以下浸出液）中の硫酸化グリコサミノグリカン（以下S-GAG）を簡易微量測定法を用いて測定した。

<材料と方法>

実験1 実験的歯周炎

実験動物としてビーグル犬10頭を用いた。健康歯肉確立後下顎左側第4前臼歯、第1大臼歯に3-0外科用縫合糸を結紮し実験的歯周炎を惹起させ、右側同名歯はコントロール側とした。Bi投与群に対してはアレディア0.3mg/kgを投与した。Bi非投与群はコントロールとして生理食塩水を投与した。

結紮0, 3日, 1, 2, 3, 4週目にGCFの採取を行い、GCF中のS-GAG量を簡易微量測定法を用いて測定した。

実験2 実験的インプラント周囲炎

実験動物としてビーグル犬8頭を用いた。インプラントフィクスチャー埋入6カ月前に第2第3臼歯を抜歯し、抜歯3ヶ月後にチタン製インプラントフィクスチャーを埋入した。3ヶ月後インプラントフィクスチャーのオステオインテグレーションを確認後、ヒーリングアパットメントの装着を行った。Bi投与群にはヒーリングアパットメント装着より実験終了まで1週間に2回Biの筋肉内注射を行い、非投与群は、コントロールとして生理食塩水の投与を行った。健康歯肉確立後、ヒーリングアパットメント周囲に3-0外科用糸を2重結紮し実験的インプラント周囲炎を惹起させた。結紮0, 3日, 1, 2, 3, 4, 6週間に臨床検査及び浸出液の採取を行い簡易微量測定法にてS-GAG量を測定した。

<結果>

実験1

1) 実験的歯周炎部位から採取されたGCF中のS-GAG

量はコントロール部位に比較し有意に多く認められた。

2) 実験的歯周炎部位から採取されたGCF中のS-GAG量はBi投与群が非投与群に比して有意に低い値であった。

3) 健康部位から採取されたGCF中のS-GAG量はBi投与群と非投与群が近似した値であった。

実験2

1) 実験的インプラント周囲炎部位から採取された滲出液中のS-GAG量はBi投与群が非投与群に比較して有意に低値であった。

2) 臨床検査値はBi投与群と非投与群が近似した値であった。

<考察及び結論>

ビスフォスフォネート投与は実験的歯周炎部位滲出液及び実験的インプラント周囲炎部位滲出液中の硫酸化グリコサミノグリカン量を有意に低下した。歯槽骨吸収を促進する実験系とそれを阻害する実験系の両系において、歯肉溝浸出液硫酸化グリコサミノグリカンは骨代謝を反映するマーカーになりうる可能性が示唆され、硫酸化グリコサミノグリカンの簡易微量測定法の有効性が示唆された。（学位請求論文）

4. ラット臼歯エナメル質形成におけるCa²⁺イメージングとシグナル伝達

姚 軍（朝日大・歯・大学院・小児歯科）

<目的>

小児歯科領域において、歯の形成の細胞生物学的なメカニズムを理解することは、歯の形成障害と治療を考えるために、きわめて重要である。

エナメル芽細胞のCa²⁺の動態については、従来、硬組織形成細胞として、その輸送と石灰化に注目されてきた。最近では、Ca²⁺は神経細胞の興奮、筋肉の収縮、細胞の増殖・分化の調節に関わることが報告されてきている。しかし、エナメル質形成におけるエナメル芽細胞内のCa²⁺の濃度分布、さらにCa²⁺によるシグナル伝達については、不明な点が多い。

そこで、本研究は、エナメル質形成におけるCa²⁺濃度分布とCa²⁺による細胞内シグナル伝達を知るため、実験1. では、共焦点レーザー顕微鏡によるラット臼歯エナメル器のCa²⁺イメージングを行った。また、実験2. として、チロシンキナーゼ型レセプター（PDGF-R, FGF-R）からCa²⁺動員のPIレスポンスに関わるシグナル伝達（PLC- γ , IP3-R）、さらにCa²⁺結合タンパク（Calbindin, Calmodulin, Ca-ATPase）の局在性を免疫組織化学的に検討し報告した。

<実験材料および方法>

実験1. 実験には、5, 7, 10日齢S.D系ラットを用いた。上顎第一臼歯歯胚を摘出後2分割し、Ca²⁺指示薬FLUO-3（エステル型）を浸透させ、共焦点レーザー顕

微鏡(BIO-RAD社製, MRC-1024)により培養下にてイメージングを行った。

実験2. 実験には, 5, 7, 10日齢S. D系ラット頭部矢状断の凍結切片(厚さ約20 μ m)を使用した。免疫組織化学法はABC法により, PDGF-R, FGF-R, PLC- γ , IP3-R, Calbindin(CaB), Calmodulin(CaM), Ca-ATPaseの各ポリクロナール抗体を反応後, それぞれの二次抗体を反応させ, 3,3'-ジアミノベンチジン(DAB)染色を行い観察した。

<結果および考察>

実験1. Ca^{2+} 指示薬の蛍光強度から, エナメル芽細胞内の Ca^{2+} は未分化期ではやや濃度は低いが, 分化期, 分泌期, 成熟期へと発育が進むにつれ, 細胞内濃度の上昇傾向が認められた。また, 乳頭層細胞にも高濃度の Ca^{2+} が認められた。

実験2. PDGF-R, FGF-R, PLC- γ は未分化期, 分化期, 分泌期に強い局在性がみられ, 移行期, 成熟期では局在性は弱い, 隣接する乳頭層細胞に強い局在性がみられた。IP3-Rは未分化期はやや弱い, 分化期, 分泌期, 分泌期後期にもっとも強い局在性を示し, 移行期から成熟期へと弱い局在性を示した。レセプターからのPIレスポンスによる Ca^{2+} 動員は, 分化期, 分泌期に, 最も活発なことが示唆された。CaB, CaM, Ca-ATPaseはともに未分化期では局在性は弱く, 分化期, 分泌期, 成熟期に強い局在性を示した。CaM, Ca-ATPaseは隣接する乳頭層細胞にも強い局在性を認めた。CaMは Ca^{2+} と結合後, 標的蛋白質と結合して生理機能を発揮するとされることから, CaMがエナメル芽細胞の細胞機能に関わることが推察された。また, Ca-ATPaseはCaM依存性酵素であることから, CaMが成熟期エナメル芽細胞および乳頭層細胞の Ca^{2+} 排出に関わることが示唆された。

<結論>

1. 共焦点レーザー顕微鏡による Ca^{2+} イメージングによりエナメル質形成における細胞内 Ca^{2+} 濃度分布が明らかとなった。
2. レセプターからのPIレスポンスによる Ca^{2+} 動員は, 分化期, 分泌期に, 最も活発なことが示唆された。
3. CaBは分化期, 分泌期に強い局在性を示し, 成熟期エナメル芽細胞内ではCaBはもっとも強く, 乳頭層細胞内にも強い局在性を認めたことから, バッファー型タンパクであるCaBはこれらの細胞内の Ca^{2+} 濃度調節に関わっていることが推察された。
4. CaMは未分化期を除く各発育期で強い局在性を認めたことから, Ca^{2+} と結合後, トリガー型タンパクとして, それらの発育期の細胞機能に関わることが推察された。
5. 成熟期エナメル芽細胞および乳頭層細胞内にCaM依存性酵素であるCa-ATPaseとCaMとの共在性を認めたことから, CaMが両細胞の Ca^{2+} 排出に関わる

ことが示唆された。

(学位請求論文)

5. 骨格性下顎前突者の下顎頭運動及び咀嚼筋筋電図の解析

萬 建一 (朝日大・歯・大学院・歯科矯正)

<目的>

顎変形症に対する外科的矯正治療の目的は, 顎顔面形態および咀嚼機能の改善である。外科的矯正治療において, 審美的な改善は視覚的にとられることが容易であるが, 顎変形症患者と正常咬合者の咀嚼機能の差異については, 不明な点も多く術前に十分な機能的検査が必要である。そこで今回我々は骨格性下顎前突者の下顎頭運動並びに筋活動を測定し, 正常咬合者と比較検討したところ興味ある知見が得られたので発表する。

<対象および方法>

研究対象には, 本学歯学部附属病院において外科的矯正治療が必要と診断された側方偏位を伴わない骨格性下顎前突者10名(男性5名, 女性5名, 平均年齢27歳1ヶ月)及び顎口腔系に自覚的, 他覚的に異常を認めず, 個性正常咬合を有するSkeletal Class I 20名(男性10名, 女性10名, 平均年齢24歳4ヶ月)を用いた。測定にはナソヘキサグラフ(GC社, JM=1000)を用いて, 術前後の前方, 側方の任意運動に加え, 咀嚼時下顎頭運動並びに安静時, 噛みしめ時の咬筋, 側頭筋筋活動を測定し, 正常咬合者と比較した。

<結果及び考察>

- 1) 術前の骨格性下顎前突者の矢状顎路角, 水平側方顎路角は正常咬合者および術後のそれと比較して有意差が認められた。
- 2) 正常咬合者では咀嚼時の矢状面における顎路角(以下 咀嚼時の矢状顎路角)は, 前方運動時の矢状顎路角と近い値を示したが, 術前の下顎前突者では, その方向に特異性がなく一定の傾向が認められなかった。
- 3) 下顎前突者術後では, 咀嚼時の矢状顎路角は, 前方運動時の矢状顎路角と近い値を示した。
- 4) 骨格性下顎前突者の術後3ヶ月の噛みしめ時の筋電図電圧は術前および正常咬合者との比較で有意に小さかった。
- 5) 骨格性下顎前突者の術後6ヶ月の噛みしめ時の筋電図電圧は術前および正常咬合者との比較で有意差は見られなかった。

<結論>

骨格性下顎前突者は外科的処置によって形態的改善のみならずおおそ術後3ヶ月には顎頭運動(矢状顎路角, 水平側方顎路角)にも改善が認められ, 正常咬合者に近い値を示すようになった。

筋機能においては採得時期が術後3ヶ月のものは, 外科的侵襲による回復途上にあり, 術後6ヶ月でほぼ